Version automate d'hématologie

Leuko64™

Analyse pour la détection de l'inflammation et des lésions tissulaires

Informations sur le produit

REF **LK-064H-100 (100 tests)**

IVD ***Pour diagnostic in vitro***

RESUME ET PRINCIPE

L'expression du CD64 sur les neutrophiles est rapidement accrue, en quelques heures, *in vitro* et *in vivo,* par les médiateurs de l'inflammation, comme l'interféron gamma et le G-CSF (1-3). Une modification identique est observée en réponse à une infection ou à une lésion tissulaire documentée, ce qui indique de ce fait que la mesure de l'expression du CD64 sur les neutrophiles est corrélée avec la présence de tels états pathologiques chez l'être humain (4-10). L'analyse Leuko64 exploite un mélange de trois anticorps monoclonaux présentant des spécificités pour le CD64 (clones 22 et 32,2) et le CD163 (clone Mac2-158). L'utilisation de deux anticorps de différents déterminants antigéniques de CD64 améliore le rapport signal/bruit de l'analyse et permet de réduire les variances du signal de fluorescence d'un lot à un autre. L'adjonction de l'anticorps monoclonal de CD163, un antigène particulier du monocyte, accroît la spécificité de l'identification de la sous-population des leucocytes, simplifiant par le fait la recherche automatisée d'algorithme moléculaire du logiciel Leuko64™ QuantiCALC et permettant l'identification de populations « contrôle positif et négatif » internes. L'utilisation d'un logiciel automatisé élimine les variances inhérentes à l'analyse standard subjective des données de cytométrie de flux en mode liste. L'utilisation d'une suspension de perles fluorescentes pour la standardisation de la numération du CD64 cellulaire permet la traçabilité au NIST Standard Reference Material SRM 1932 (RM 8640) et fournit également un mécanisme pour réduire d'un lot sur l'autre les différences dans les kits de dosage Leuko64. Les résultats du dosage Leuko64 sont rapportés comme un indice PMN CD64 en tant que paramètre diagnostic, avec les indices Monocyte CD64 et CD163.

APPLICATION

La version LK-064H-100 du kit d'analyse Leuko64 est destinée à l'utilisation avec un automate d'hématologie Abbott Cell-Dyn 4000™ ou Cell-Dyn Sapphire™.

DOMAINE D'APPLICATION

La trousse de dosage diagnostic Trillium Leuko64 a été conçue pour être utilisée dans la mesure de l'expression du CD64 sur les neutrophiles leucocytaires. Elle est également destinée à être utilisée avec d'autres résultats et évaluations cliniques en laboratoire afin de faciliter le diagnostic *in vitro* de la réponse inflammatoire systémique aiguë aux lésions tissulaires qui se produit notamment en cas de dommages aux tissus, d'infection ou de sepsie. Le Trillium Leuko64 est uniquement destiné au diagnostic *in vitro* réalisé par un personnel formé et qualifié.

COMPOSANTS DU KIT

Nom du réactif	Quantité fournie	Utilisation
Réactif A	1 flacon de 5,5 ml	Mélange d'anticorps monoclonaux murins *(contient une solution saline tamponnée avec 0,5 % d'albumine sérique bovine purifiée (BSA) et 0,01 % d'azide de sodium)*
Réactif C- II	1 flacon de 2,2 ml	Perles en polystyrène marquées au StarFire Red et à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) avec 0,01 % de Tween 20 et 0,1 % d'azide de sodium.
Etiquettes de code barre	Tube 1 – 110 étiquettes Tube 2 – 110 étiquettes	Etiquettes de code barre (Tube 1 et Tube 2) nécessaires à l'utilisation de l'automate d'hématologie Cell-Dyn
Logiciel Leuko64	1 disque spécifique au lot	Analyse des données en mode liste et établissement de rapports avec fichiers type. Le CD joint contient également des didacticiels destinés à la formation de l'utilisateur afin d'optimiser l'utilisation de la trousse de dosage Leuko64.

TRILLIUM DIAGNOSTICS

EQUIPEMENT NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Automate d'hématologie Abbott Cell-Dyn Sapphire™ ou Cell-Dyn 4000™
- 13 x 75 « VACUETTE® No-Additive Tubes » de la marque Greiner Bio-One (référence : 454088 ou 454001 - Z sans additif ni enrobage, avec bouchon perçable) Ce système d'analyse n'a pas été validé à l'aide de tubes contenant des additifs ou du produit enrobant. Il est déconseillé de les utiliser car ceci pourrait avoir un impact négatif sur les résultats d'analyse.
- Tout tube vide de 13x75 disposant d'un bouchon perçable et compatible avec les automates Abbott Cell-Dyn peuvent être utilisés dans les positions Sample (Echantillon) et Tube 1.
- Micropipettes(s) capables de distribuer 20 uL et 50 uL et embouts jetables
- Mélangeur vortex
- Ordinateur pour l'analyse du fichier en mode Liste et de "Memory Stick" pour le transfert de fichiers à partir de Cell Dyn instrument

SPECIMEN

L'analyse Leuko64 ne nécessite que 50 µl de sang EDTA total anticoagulé, ce qui permet d'effectuer des tests chez des patients de tout âge. Les échantillons demeurent acceptables pendant 8 heures s'ils sont conservés à température ambiante (18-22°°C) ou pendant 48 heures s'ils ont été réfrigérés (2-8°°C).

MODE D'EMPLOI

Cette analyse peut être utilisée UNIQUEMENT en mode Autoloader du Cell-Dyn 4000™ ou du Cell-Dyn Sapphire™

1. Collez une étiquette de code barre Leuko64-H Tube 1 sur un tube 13x75 compatible avec l'automate Cell-Dyn. Ce tube sert de repère uniquement. Aucun réactif ou échantillon ne sera placé dans ce tube.
2. Collez une étiquette de code barre Leuko64-H Tube 2 sur un tube13x75 sans additif ni enrobage, muni d'un bouchon perçable. **Pour de plus amples informations sur l'emplacement correct de l'étiquette de code barre, veuillez consulter le manuel de l'utilisateur de l'Abbott Cell-Dyn 4000™ (Appendix B-11) ou du Cell-Dyn Sapphire™ (Sec 4-9).* (11,12)
3. A l'aide d'une pipette, placez 50µ l de réactif A dans **le fond** du Tube 2. Evitez de laisser couler le réactif le long de la paroi interne du tube, ceci peut empêcher le mélange de se faire correctement.
4. Placez 50µl de sang total bien mélangé au fond du Tube 2 avec le réactif A. Evitez de laisser couler le sang le long de la paroi interne du tube. Si du sang se dépose sur les parois internes du tube, essuyez-le à l'aide d'un tampon.
5. Mélangez le contenu du tube avec précaution à l'aide d'un mélangeur vortex, ou en tenant le haut du tube d'une main et en le tapotant près du fond au moins 5 fois avec un doigt de l'autre main.
6. Il est très important que le mélange de la suspension de perles du réactif C-II soit bien effectué, la meilleure méthode étant de procéder au vortex du flacon pendant 10 secondes avant utilisation. A l'aide d'une pipette, ajoutez 20µl de réactif C-II **bien mélangé** au contenu du Tube 2, toujours en évitant les parois du tube.
7. Mélangez le contenu du tube avec précaution comme décrit à **l'étape 5.** Commencez une incubation de pré-analyse de 10 minutes.
8. Pendant cette incubation de 10 minutes, programmez la liste de travail à l'aide de l'option « *rack and position* » de l'identification et en sélectionnant l'analyse CD3 / 4 / 8.
9. Chargez un rack Autoloader dans l'ordre suivant :

   Position 1 - un tube **vide** de recueil de sang muni d'un bouchon perçable. ***Vérifiez bien qu'il n'y a pas de code barre sur le tube.***
   Position 2 - Tube 1 de **l'étape 1**
   Position 3 - Tube 2 de **l'étape 2**
10. Sélectionnez « *Run Autoloader* » (Lancer l'autoloader). ***REMARQUE :*** comme cette analyse utilise l'Analyse CELL-DYN Immuno T-Cell (CD3/4/8) existant d'Abbott, vous pouvez ignorer les messages et les avertissements du système faisant référence à l'échantillon ou aux données (petit échantillon, violation du taux de compte de globules blancs, nombre d'événements de globules blancs refusés supérieur à la limite). Lorsque vous analysez une série de spécimens, des erreurs répétées de type petit échantillon entraîneront l'arrêt de l'automate, nécessitant une réaction de la part de l'opérateur. Cliquez sur « OK » puis sur « Run Autoloader » (Lancer l'autoloader). Tout message du système concernant l'instrument ou les réactifs (problème de seringue, échec de l'autoloader, réactif insuffisant) doit donner lieu à la réponse appropriée.

ANALYSE DU FICHIER EN MODE LISTE

Chargez le logiciel QuantiCALC Leuko64™ fourni sur le PC qui sera utilisé pour l'analyse des données. Copiez les fichiers en mode liste des échantillons pour le transfert vers cet ordinateur d'analyse. Pour l'analyse des données en mode liste, suivez les instructions conviviales qui se trouvent dans le fichier d'aide du logiciel. Revoir le tutorial sur le CD des logiciels d'analyse avant de les utiliser. ***REMARQUE : le logiciel est spécifique au lot et les protocoles d'utilisation sont spécifiques au mode de l'instrument. Vous serez invité à vérifier que la sélection est correcte.***

MANIPULATION ET STOCKAGE

Ce produit est à manipuler avec précaution. Il est important de suivre les précautions universelles lors de l'utilisation de ce produit et de l'analyse des échantillons des patients. Évitez l'inhalation, l'ingestion et tout contact avec la peau ou les yeux. Portez l'équipement de protection individuel approprié et suivez les pratiques de sécurité des laboratoires d'analyses biologiques.

Conservez les flacons à la verticale, bien fermés, à 2-8°°C quand ils ne sont pas utilisés. Les flacons non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur chacun d'entre eux et sur la fiche de dosage. Évitez de soumettre les produits à des cycles de refroidissement et de réchauffement successifs. Protégez le produit contre la congélation, les températures supérieures à 30° °C et un séjour prolongé à température ambiante (18-26°°C) ou une longue exposition à la lumière.

TRILLIUM DIAGNOSTICS

AVERTISSEMENT

Tous les composants de ce kit contiennent de l'azide de sodium (<0,1 % p/ v) comme agent de conservation. Ce produit chimique est un composé toxique et dangereux quand il est combiné à des acides ou des métaux. Manipulez en prenant les précautions appropriées. Les solutions contenant de l'azide de sodium doivent être éliminées de façon appropriée.

CONTROLE QUALITE DU PRODUIT

Les performances et la spécificité des réactifs contenus dans ce kit ont été testées à l'aide des méthodes de contrôle qualité interne de Trillium. La fabrication de ce produit a été réalisée dans le respect de directives de système qualité et de fabrication conformes aux normes FDA QSR et ISO 13485:2003.

LIMITATIONS DU PRODUIT

- Il a été établi que l'utilisation thérapeutique de l'interféron gamma, du G-CSF ou d'agents qui modulent leurs niveaux affectent la régulation à la hausse de l'expression du CD64 leucocytaire et, donc, l'interprétation du dosage. Les résultats du dosage Leuko64 ne doivent pas constituer la seule mesure de l'inflammation chez ces patients mais ils peuvent servir à mesurer l'effet de tels traitements.
- Il convient de respecter les conditions de conservation et d'utilisation de ce produit et des spécimens à tester afin d'assurer des performances optimales et d'éviter les résultats erronés ou inexacts.
- Un mélange incomplet du Réactif C avant emploi rend invalide l'aliquote qui a été prélevée ainsi que le matériel qui reste dans le flacon. Le choix d'un protocole pour instrument ou d'un numéro de lot de trousse incorrect lors du lancement du logiciel peut réduire la précision de l'analyse des données en mode liste. Le logiciel est spécifique au lot et les protocoles d'utilisation sont spécifiques au modèle de l'instrument. Effectuez une sélection correcte lorsque vous y êtes invité.
- Tout fichier relatif à un échantillon sanguin sévèrement leucopénique ou neutropénique indiquant moins de 200 événements de leucocytémie sélectionnés par le logiciel Leuko64 dans l'une des trois catégories (PMN, Lymphocyte ou Monocyte) ne peut pas être analysé par le dosage Leuko64 sans une importante réduction de la justesse et de la précision de l'indice PMN CD64.
- Tout fichier dont le nombre de perles est inférieur à 1000 doit être évalué afin de déterminer la raison de ce faible nombre de perles, qui peut être dû à des paramètres incorrects sur l'instrument ou à un échantillon sanguin non dilué dont la leucocytémie est >25 x 109 cellules/L.
- Ce produit doit être utilisé uniquement avec l'automate d'hématologie Abbott Cell-Dyn 4000™ ou Cell-Dyn Sapphire™. Pour le bon déroulement de l'analyse.
- L'étiquette de code barre doit impérativement être placée correctement. Veuillez vous référer au manuel de l'utilisateur de l'Abbott Cell-Dyn™ pour obtenir de plus amples renseignements.
- Ce système d'analyse n'a pas été validé à l'aide de tubes contenant des additifs ou des produits enrobants. Il est déconseillé de les utiliser car ceci pourrait avoir un impact négatif sur les résultats.

CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES

Chaque laboratoire doit établir une ou plusieurs plages de référence acceptables pour chacun des lots de Leuko64-H™. Il est prévu que la plage de référence de l'indice PMN CD64 pour des échantillons sanguins normaux soit ≤1,00. En général, plus la réponse inflammatoire systémique aiguë est sévère, plus la valeur mesurée de l'indice PMN CD64 (et Monocyte) est élevée. Les plages de référence prévues pour les indices Monocyte CD64 et CD163 n'ont pas été établies. Les plages prévues pour les indices Monocyte CD64 et CD163 n'ont pas été établies.

RÉFÉRENCES

1 Davis BH. (2005) Improved Diagnostic Approaches to Infection/Sepsis Detection. Expert Rev Mol Diag, 5, 193-207.

2 Schiff, D., Rae, J., Martin, T., Davis, B., Curnutte, J. (1997) Increased phagocyte CD64 expression and improved Fc-receptor mediated phagocytosis following *in vivo* recombinant human interferon-γ treatment of normal human subjects. Blood 90, 2987-94.

3 Petroni KC, Shen L, Guyre PM (1988) Modulation of human polymorphonuclear leukocyte IgG Fc receptors and Fc receptor-mediated functions by IFN-gamma and glucocorticoids. J. Immunol 140, 3467-72.

4 Davis BH, Bigelow NC, Curnutte JT, Ornvold K (1995) Neutrophil CD64 expression: Potential diagnostic indicator of acute inflammation and therapeutic monitor of interferon-□ therapy. Lab Hematol 1, 3-12.

5 Guyre PM, Campbell AS, Kniffin WD, Fanger MW (1990) Monocytes and polymorphonuclear neutrophils of patients with streptococcal pharyngitis express increased numbers of type I IgG Fc receptors. J Clin Invest 86, 1892-1.

6 Ng PC and Lam HS. (2006) Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr* 18(2):125-131.

7 Davis BH and Bigelow NC (2005) Comparison of neutrophil CD64 expression, manual myeloid immaturity counts, and automated hematology analyzer flags as indicators of infection or sepsis. *Lab Hematol* 11:137- 47.

8 Leino L, Sorvajarvi K, Katajisto J, Laine M, Lilius E, Pelliniemi T, Rajamaki A, Silvoniemi P, Nikoskelainen J (1997) Febrile infection changes the expression of IgG Fc receptors and complement receptors in human neutrophils in vivo. Clin Exp Immunol 107, 37-43.

9 Davis BH, Olsen S, Ahmad E, Bigelow NC (2006) Neutrophil CD64 is an Improved Indicator of Infection or Sepsis in Emergency Room Patients. Arch Pathol Lab Med. 130(5):654-61.

10 Van der Meer W, Pickkers P, Scott CS, van der Hoeven JG, Bunnewiek JK. (2007) Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia. J Endotoxin Res 13:94-100.

11 Groselj M, Ihan A, Derganc M. (2008) Neutrophil and Monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensity and calculated Indexes. Mediators of Inflammation 2008, article ID 202646

12 Bhandari V, Wang C, Rinder C, Rinder H: (2008) Hematologic profile of sepsis in neonates: Neutrophil CD64 as a diagnostic marker. Pediatrics 121:129-134.

13 Cell-Dyn 4000™ System Operator's Manual, Appendix B-11 to B-13, Abbott Diagnostics Division, 9140275G- October 2001.

14 Cell-Dyn Sapphire™ System Operator's Manual, Section 4-9, Abbott Diagnostics Division, 9140419C- December 2005.

15 US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Parts 1910. 1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register 235:64175-82. 1991.

16 US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication (NIH) 93-8395.Washington: US Government Printing Office. 1993.

TRILLIUM DIAGNOSTICS

MARQUES COMMERCIALES

Le logiciel Leuko64™ QuantiCALC est protégé par un copyright et a été co-développé par :
VERITY SOFTWARE HOUSE • Topsham, Maine, USA • www.vsh.com *et*
TRILLIUM DIAGNOSTICS, LLC • Brewer, Maine, USA • www.trilliumdx.com

Cell-Dyn 4000™ et Cell-Dyn Sapphire est marques commerciale d'Abbott Laboratories • Abbott Park, Illinois, USA • www.abbottdiagnostics.com

Vacuette® est une marque commerciale de Greiner Bio-One • Kremsmuenster, Autriche • www.vacuette.gbo.com

SUPPORT CLIENTELE

Trillium Diagnostics, LLC
PO Box 67
Brewer, Maine, USA 04412
Tel 1-207-945-0900
Fax 1-207-942-0346
Technical info@trilliumdx.com
Orders accepted by Phone, Fax, or Website
www.trilliumdx.com

EC REP
IQ Products, bv
Rozenburglaan 13a
9727 DL Groningen, The Netherlands
Tel +31 (0) 50 57 57 000
Fax +31 (0) 50 57 57 002
Technical marketing@iqproducts.nl
Orders orders@iqproducts.nl
www.iqproducts.nl